

PATENT COOPERATION TREATY



PCT

NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE
COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL
APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

ISHIDA, Takashi
A. Aoki, Ishida & Associates
Toranomom 37 Mori Bldg.
5-1, Toranomom 3-chome
Minato-ku, Tokyo 105-8423
JAPON

Date of mailing (day/month/year) 28 December 2000 (28.12.00)		IMPORTANT NOTICE	
Applicant's or agent's file reference H740-PCT			
International application No. PCT/JP00/04022	International filing date (day/month/year) 20 June 2000 (20.06.00)	Priority date (day/month/year) 22 June 1999 (22.06.99)	
Applicant WAKUNAGA PHARMACEUTICAL CO., LTD. et al			

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this Notice:
US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present Notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:
CA,CN,EP,JP

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this Notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on
28 December 2000 (28.12.00) under No. WO 00/78128

REMINDER REGARDING CHAPTER II (Article 31(2)(a) and Rule 54.2)

If the applicant wishes to postpone entry into the national phase until 30 months (or later in some Offices) from the priority date, a demand for international preliminary examination must be filed with the competent International Preliminary Examining Authority before the expiration of 19 months from the priority date.

It is the applicant's sole responsibility to monitor the 19-month time limit.

Note that only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination.

REMINDER REGARDING ENTRY INTO THE NATIONAL PHASE (Article 22 or 39(1))

If the applicant wishes to proceed with the international application in the national phase, he must, within 20 months or 30 months, or later in some Offices, perform the acts referred to therein before each designated or elected Office.

For further important information on the time limits and acts to be performed for entering the national phase, see the Annex to Form PCT/IB/301 (Notification of Receipt of Record Copy) and Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No. (41-22) 740.14.35	Authorized officer J. Zahra Telephone No. (41-22) 338.83.38
--	---

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2000 年 12 月 28 日 (28.12.2000)

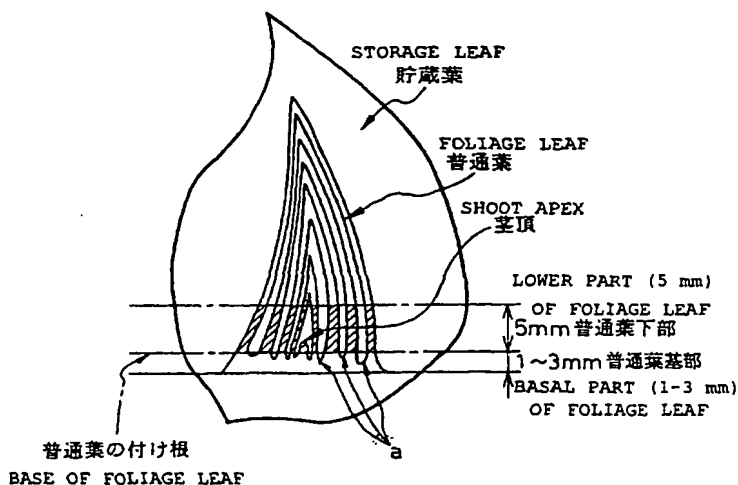
PCT

(10) 国際公開番号
WO 00/78128 A1

- (51) 国際特許分類: A01H 4/00 Masanori) [JP/JP]. 角慎一郎 (SUMI, Shinichiro) [JP/JP]; 〒739-1105 広島県高田郡甲田町下甲立1624 湧永製薬株式会社内 Hiroshima (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP00/04022
- (22) 国際出願日: 2000 年 6 月 20 日 (20.06.2000) (74) 代理人: 石田 敬, 外 (ISHIDA, Takashi et al.); 〒105-8423 東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37 森ビル 青和特許法律事務所 Tokyo (JP).
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ: 特願平11/175768 1999年6月22日 (22.06.1999) JP (81) 指定国 (国内): CA, CN, JP, US.
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 湧永製薬株式会社 (WAKUNAGA PHARMACEUTICAL CO., LTD.) [JP/JP]; 〒532-0003 大阪府大阪市淀川区宮原4丁目5番36号 Osaka (JP). 添付公開書類:
— 国際調査報告書
- (72) 発明者; および (84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 綾部昌則 (AYABE, 2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: METHOD FOR CONSTRUCTING VIRUS-FREE PLANT

(54) 発明の名称: ウイルスフリー植物の作出方法



(57) Abstract: Vigorous cell division is under way in a dome-shaped tissue formed by culture in the basal part of a foliage leaf in a bulb or a tuber. Thus, it is expected that this tissue is free from viruses. A virus-free plant is obtained by isolating and culturing this dome-shaped tissue.

(57) 要約:

鱗茎または球根中の普通葉基部の培養によって形成されるドーム状組織は活発に細胞分裂を行っており、ウイルスが存在しないことが期待される。このドーム状組織を分離、培養してウイルスフリー植物体を得る。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

国際調査報告

(法 8 条、法施行規則第 40、41 条)
〔PCT 18 条、PCT 規則 43、44〕

出願人又は代理人 の書類記号 H740-PCT	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記 5 を参照すること。		
国際出願番号 PCT/JPO0/04022	国際出願日 (日.月.年) 20.06.00	優先日 (日.月.年) 22.06.99	
出願人 (氏名又は名称) 湧永製薬株式会社			

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第 41 条 (PCT 18 条) の規定に従い出願人に送付する。
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 2 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

1. 国際調査報告の基礎

a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。

☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。

b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。

☒ この国際出願に含まれる書面による配列表

☒ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表

☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表

☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。

☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☐ 請求の範囲の一部の調査ができない (第 I 欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している (第 II 欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。

☐ 第 III 欄に示されているように、法施行規則第 47 条 (PCT 規則 38.2(b)) の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から 1 カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、

第 1 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。

☐ なし

☒ 出願人は図を示さなかった。

☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A01H4/00

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl⁷ A01H4/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

JICSTファイル (JOIS)
BIOSIS (DIALOG)

C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名、及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP, 6-197650, A (湧永製薬株式会社), 19. 7月. 1994 (19. 07. 94), 全文, 全図, 特に【0004】～ 【0005】及び【0038】 (ファミリーなし)	1-5
A	JP, 3-160935, A (味の素株式会社), 10. 7月. 1 991 (10. 07. 91), 全文, 全図 (ファミリーなし)	1-5

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
「&」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

11. 09. 00

国際調査報告の発送日

19.09.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)
郵便番号 100-8915
東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

坂田 誠



2B 9318

電話番号 03-3581-1101 内線 3235

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.

PCT/JP00/04022

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int.Cl⁷ A01H4/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int.Cl⁷ A01H4/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
JICST FILE (JOIS)
BIOSIS (DIALOG)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP, 6-197650, A (Wakunaga Pharmaceutical Co., Ltd.), 19 July, 1994 (19.07.94), Full text; all drawings; especially, Par. Nos. [0004]~[0005], [0038] (Family: none)	1-5
A	JP, 3-160935, A (Ajinomoto Co., Inc.), 10 July, 1991 (10.07.91), Full text; all drawings (Family: none)	1-5

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
11 September, 2000 (11.09.00)

Date of mailing of the international search report
19 September, 2000 (19.09.00)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Translation

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference H740-PCT	FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP00/04022	International filing date (day/month/year) 20 June 2000 (20.06.00)	Priority date (day/month/year) 22 June 1999 (22.06.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A01H 4/00		
Applicant WAKUNAGA PHARMACEUTICAL CO., LTD.		

1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.

2. This REPORT consists of a total of 3 sheets, including this cover sheet.

☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).

These annexes consist of a total of _____ sheets.

3. This report contains indications relating to the following items:

- I ☒ Basis of the report
- II ☐ Priority
- III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability
- IV ☐ Lack of unity of invention
- V ☒ Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement
- VI ☐ Certain documents cited
- VII ☐ Certain defects in the international application
- VIII ☐ Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 27 November 2000 (27.11.00)	Date of completion of this report 07 March 2001 (07.03.2001)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP00/04022

I. Basis of the report

1. With regard to the **elements** of the international application:*

☒ the international application as originally filed

☐ the description:

pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

☐ the claims:

pages _____, as originally filed
pages _____, as amended (together with any statement under Article 19
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

☐ the drawings:

pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

☐ the sequence listing part of the description:

pages _____, as originally filed
pages _____, filed with the demand
pages _____, filed with the letter of _____

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language _____ which is:

☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).

☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).

☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

☐ contained in the international application in written form.

☐ filed together with the international application in computer readable form.

☐ furnished subsequently to this Authority in written form.

☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.

☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.

☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

☐ the description, pages _____

☐ the claims, Nos. _____

☐ the drawings, sheets/fig _____

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).**

* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

** Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP00/04022

V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

1. Statement

Novelty (N)	Claims		YES
	Claims	1-5	NO
Inventive step (IS)	Claims		YES
	Claims	1-5	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-5	YES
	Claims		NO

2. Citations and explanations

Claims 1-5

Document 1 [JP, 6-197650, A (Wakunaga Pharmaceutical Co., Ltd.), 19 July, 1994 (19.07.94) (Family: none)] cited in the ISR describes a technique, in which (1) the basal part of a foliage leaf of a garlic in a range of 1 to 3 mm from the base of the foliage leaf is cultured as an explant in the absence of any hormone, to obtain a dome-shaped tissue, and (2) the dome-shaped tissue is isolated and cultured to obtain a redifferentiated plant body. Furthermore, document 1 describes that the dome-shaped tissue is similar to a shoot apex tissue used for producing a virus-free plant, to suggest that the redifferentiated plant body produced by said technique is free from viruses.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

REC'D 26 MAR 2001

WIPO

PCT

PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)
[PCT36条及びPCT規則70]

出願人又は代理人 の書類記号 H740-PCT	今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP00/04022	国際出願日 (日.月.年) 20.06.00	優先日 (日.月.年) 22.06.99
国際特許分類(IPC) Int. Cl ⁷ A01H4/00		
出願人(氏名又は名称) 湧永製菓株式会社		

1. 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。
2. この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 3 ページからなる。
- ☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)
この附属書類は、全部で ページである。
3. この国際予備審査報告は、次の内容を含む。
- I ☒ 国際予備審査報告の基礎
- II ☐ 優先権
- III ☐ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成
- IV ☐ 発明の単一性の欠如
- V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明
- VI ☐ ある種の引用文献
- VII ☐ 国際出願の不備
- VIII ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 27.11.00	国際予備審査報告を作成した日 07.03.01	
名称及びあて先 日本国特許庁(IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員) 坂 田 誠	2B 9318
電話番号 03-3581-1101 内線 6952		

THIS PAGE BLANK (USPTO)

I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 請求の範囲 第 _____ 項、 出願時に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 PCT19条の規定に基づき補正されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
請求の範囲 第 _____ 項、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 図面 第 _____ ページ/図、 出願時に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
図面 第 _____ ページ/図、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 出願時に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの
明細書の配列表の部分 第 _____ ページ、 _____ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である _____ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった
☐ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記録した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 _____ ページ
☐ 請求の範囲 第 _____ 項
☐ 図面 図面の第 _____ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならない、本報告に添付する。)

THIS PAGE BLANK (USPTO)

V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

1. 見解

新規性(N)

請求の範囲

請求の範囲

1-5

有

無

進歩性(IS)

請求の範囲

請求の範囲

1-5

有

無

産業上の利用可能性(IA)

請求の範囲

請求の範囲

1-5

有

無

2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

請求の範囲1-5

国際調査報告で提示した文献1{JP, 6-197650, A(湧永製薬株式会社), 19.7月.1994(19.07.94)(ファミリーなし)}には、ニンニクの普通葉の付け根から1~3mm下部までの普通葉基部を外植片とし、ホルモン非存在下で培養することで形成されるドーム状組織を分離・培養することで再分化植物体を得る技術が記載されている。さらに、文献1にはかかるドーム状組織がウイルスフリー植物の作出に使用される茎頂組織と類似していることが記載されており、上記の技術によって作出された再分化植物体がウイルスフリーであることが示唆されている。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2000年12月28日 (28.12.2000)

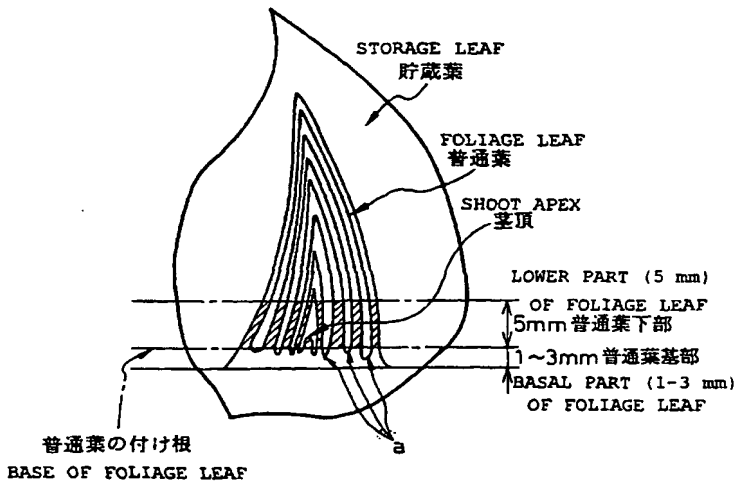
PCT

(10) 国際公開番号
WO 00/78128 A1

- (51) 国際特許分類: A01H 4/00 Masanori) [JP/JP]. 角慎一郎 (SUMI, Shinichiro) [JP/JP];
〒739-1105 広島県高田郡甲田町下甲立1624 湧永製薬
(21) 国際出願番号: PCT/JP00/04022 株式会社内 Hiroshima (JP).
(22) 国際出願日: 2000年6月20日 (20.06.2000) (74) 代理人: 石田 敬, 外 (ISHIDA, Takashi et al.); 〒
105-8423 東京都港区虎ノ門三丁目5番1号 虎ノ門37
(25) 国際出願の言語: 日本語 森ビル 青和特許法律事務所 Tokyo (JP).
(26) 国際公開の言語: 日本語 (81) 指定国 (国内): CA, CN, JP, US.
(30) 優先権データ: 特願平11/175768 1999年6月22日 (22.06.1999) JP (84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE,
DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).
(71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 湧永製薬
株式会社 (WAKUNAGA PHARMACEUTICAL CO.,
LTD.) [JP/JP]; 〒532-0003 大阪府大阪市淀川区宮原4
丁目5番36号 Osaka (JP).
添付公開書類:
— 国際調査報告書
(72) 発明者; および
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 綾部昌則 (AYABE,
2文字コード及び他の略語については、定期発行される
各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語
のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: METHOD FOR CONSTRUCTING VIRUS-FREE PLANT

(54) 発明の名称: ウイルスフリー植物の作出方法



(57) Abstract: Vigorous cell division is under way in a dome-shaped tissue formed by culture in the basal part of a foliage leaf in a bulb or a tuber. Thus, it is expected that this tissue is free from viruses. A virus-free plant is obtained by isolating and culturing this dome-shaped tissue.

(57) 要約:

鱗茎または球根中の普通葉基部の培養によって形成されるドーム状組織は活発に細胞分裂を行っており、ウイルスが存在しないことが期待される。このドーム状組織を分離、培養してウイルスフリー植物体を得る。

WO 00/78128 A1

THIS PAGE BLANK (USPTO)

明 細 書

ウイルスフリー植物の作出方法

発明の分野

本発明はニンニクを代表とするアリウム属植物およびその他の鱗茎、球根によって繁殖する植物のウイルスフリー植物の作出法に関する。さらに具体的には普通葉基部を培養することによって得られるドーム状組織を分離、培養してウイルスフリー植物体を作成する方法に関するものである。

背景技術

アリウム属植物には、ニンニク、タマネギ、ラッキョウ、ネギ、ワケギ、ニラ、アサツキ等がある。これら植物は食用、香辛料として広く利用されている。また、ニンニクは古くから薬効も認められていて、強精、強壮薬等としても利用されている。アリウム属植物の栽培は日本をはじめ世界各国で行われているが、近年、ウイルスによる被害が栽培上の大きな問題となっている。このようなウイルスとして、例えばニンニクでは、garlic viruses (GarVs)、leek yellow stripe virus (LYSV)、onion yellow dwarf virus (OYDV)、garlic latent virus (GLV) などが知られている。ニンニクは栄養繁殖性の作物であるため、一度ウイルスに感染すると後代にまで伝搬してウイルス汚染が広がることが知られている。ニンニク以外のアリウム属植物でも同様の被害が知られており、このようなウイルス汚染に対する根本的な防除対策が迫られている。

一方、近年、植物の組織培養法が確立され、この技術を応用して各種栄養繁殖性植物のウイルス除去が可能となってきた。一般

に、ウイルスに汚染された植物でも茎頂組織（生長点、meristem）にはウイルスが存在していないことが知られている。従って、この茎頂組織を培養して植物体を再分化させることにより、ウイルス無感染（ウイルスフリー）の植物を得ることができる。また、植物組織を培養してカルスを形成させ、そのカルスを継代培養していくことによりウイルスが除去されることも知られており、ウイルスが除去されたカルスより植物体を再分化させることにより、ウイルスフリーの植物を得ることもできる。

ニンニクに代表されるようなアリウム属植物についても上記方法によりウイルスを除去することが行われており、ウイルスフリーのアリウム属植物が実際に栽培されている。

しかし、茎頂組織を培養してウイルスフリーのアリウム属植物を得る方法では、通常一つの茎頂組織からは一個体もしくは数個体の植物体しか得られないため、多数の植物体を得るためには、それと同等数の茎頂組織を摘出する必要がある。また、茎頂組織はニンニク鱗片の基部にあり、大きさは約0.5mm 以下であるため茎頂の摘出には顕微鏡下での作業が必要となる。従って茎頂摘出作業は煩雑となり、作業効率是非常に低い。

一方、カルスから再分化させてウイルスフリーのアリウム属植物を得る方法は、一度カルスを誘導すればそのカルスを大量に増殖させることが可能であり、再分化植物体も大量に得ることができる。しかし、カルス培養の際に頻発する変異のため、均一な遺伝的性質を持つアリウム属植物を得ることは困難である。

そのため、茎頂培養によってウイルスフリー化したアリウム属植物を組織培養法によって大量培養する方法や普通葉基部を用いた再分化植物体の調製法が開発され、少量のウイルスフリー植物を材料として大量に増殖させることが可能となった（特開平6-197650）。

しかし、これらの方法は材料となるウイルスフリー植物を常に確保する必要があり、網室等を用いた隔離栽培を行い該植物を維持しなければならない。

発明の開示

本発明はウイルスに感染した植物をもとにして、茎頂以外の組織からウイルスフリー植物を作出する培養法に関するものである。

普通葉基部を培養することによって、ドーム状組織を経由した植物体分化が誘導される。このドーム状組織は活発に細胞分裂をしており、茎頂組織と同様にウイルスが存在しないことを本発明者ははじめて見出した。従って、ドーム状組織のみを分離し、培養することによりウイルスフリー植物を形成させることが可能となった。ドーム状組織は1鱗片から複数個形成されるため、従来の茎頂培養法に比べ、飛躍的に効率が向上する。

従って本発明は、鱗茎または球根によって繁殖する植物の普通葉基部から成る外植片の培養によって形成されるドーム状組織を分離し、培養することを特徴とするウイルスフリー植物の作出方法を提供する。

好ましくは、前記外植片は茎頂及び普通葉を除いた普通葉基部であり、それを植物ホルモンの非存在下で培養し、ドーム状組織を形成させる。

好ましくは、普通葉基部は、普通葉の付け根から1～3 mm下部までの切片である。

鱗茎または球根によって増殖する植物は、好ましくはアリウム属植物である。

前記アリウム属植物は、さらに好ましくはニンニクである。

図面の簡単な説明

図 1 はニンニク鱗茎の断面を略図的に示す。

発明の実施の形態

(a) 適応する植物

本発明は、普通葉を備えた鱗茎または球根を形成する植物に適応する。ユリ、スイセン、チューリップなどがあげられるが、その中でもアリウム属植物、特にニンニクが最も適している。

(b) 外植片の調製

本発明では外植片として、普通葉基部を用いる。鱗茎または球根から普通葉基部を摘出する方法としては、例えば、鱗茎もしくは球根または適当な大きさに切断した鱗茎もしくは球根を次亜塩素酸ナトリウム、塩化ベンザルコニウム、エチルアルコール等の植物細胞に直接影響のない殺菌剤で殺菌し、ついで殺菌水で十分洗浄後、貯蔵葉を取り除き、普通葉を露出させ上部を切断除去した後、普通葉下部、茎頂も除去し、残っている普通葉の基部を適当な厚さ、例えば約 1 ～ 3 mm に切りとり、培養に供する（特開平 6-197650）。なお、ニンニクの鱗茎中の普通葉基部の位置を図 1 に示す。

(c) 使用培地

培地としては少なくとも無機塩類、ビタミン等の有機成分、炭素源、植物生長調節物質等の植物の生育に必要な成分を含む任意の培地を用いることができる。本発明では基本培地として、ムラシゲ・スクーグ培地、リンスマイヤー・スクーグ培地等を用いることができる。

(d) 培養

上記培地に (b) で示したようにして調製した外植片を植え込み、植物のよく生育できる温度下（10～30℃好ましくは20～26℃）、50

0 ～15000 ルクス、好ましくは3000～8000ルクスの照明下（1日あたり9 ～18時間好ましくは12～16時間）で培養を行うことにより5日～7日でドーム状の組織が形成される。このドーム状組織はこのまま培養を継続すると生長して植物体となる。本培養法では、このドーム状組織を外植片から分離して培養する。5日～7日の培養で形成されたドーム状組織をカミソリ刃またはメスを使って切り取り、再度、(c) で示した培地に置床する。同様に培養を行なうことにより、ドーム状組織は緑化、生長し、1ヶ月程度で小植物体となる。さらに培養を継続すると、小植物体は発根する。

(e) 栽培

前記(d) の培養で得られた、発根した小植物体を適当な用土を入れたポリポットに移植し、育苗する。生長した植物体をさらに大きな鉢または圃場に移植し、栽培を行なう。

(f) ウイルス検定

本培養で得られた植物のウイルス検定を行い、ウイルスフリー植物であることを確認する。ウイルスの検定法は、各植物で確立された方法によって行なう。例えば、アリウム属植物では、抗ウイルス抗体を用いた検定法またはPCR 法を用いたウイルス遺伝子の存在の有無を確認する検定法がある（PHYTOPATHOLOGY, Vol.86, No.3, 253 ～259 （1996））。

実施例

本実施例では、アリウム属植物のうちニンニク（*Allium sativum* L.）を用いたウイルスフリー作出についてその培養方法を示す。

培養の材料としては、福地ホワイト種及び北海道在来種のニンニクを用いた。福地ホワイト種は1種類のウイルス（leek yellow stripe virus(LYSV)）または2種類のウイルス(leek yellow stripe

virus(LYSV) 及び onion yellow dwarf virus(OYDV)) に、北海道在来種は4種類のウイルス〔garlic viruses (GarVs)、leek yellow stripe virus (LYSV)、onion yellow dwarf virus (OYDV) 及び garlic latent virus (GLV)〕に感染している株を用いた。

1. 材料の殺菌

まず、ニンニクの鱗茎を小鱗茎に分解した後、外皮を除去した。次いで、塩化ベンザルコニウム溶液及び水で洗浄後、小鱗茎の基部を約1cmの立方体状に切断した。この切片を70% エタノールに5分間浸漬した後、滅菌水で洗浄した。

2. 外殖片の調製

材料の殺菌後、残っている貯蔵葉部分を取り除き、普通葉を露出させた。普通葉の高さが0.5cm程度になるように上部を切りとり、縦方向に4分割した後、残った普通葉下部をはぎ取り、茎頂を取り除いた後の基部を約2mmの厚さに切りとり外殖片とした。

3. 培地

植物ホルモン無添加のリンスマイヤーとスクーグの培地（以下LS培地）を培養に用いた。

4. 培養

調製済みの外殖片をLS培地に置床し、25℃、16時間照明で静置培養を行った。

5. ドーム状組織の形成及び分離培養

培養を開始して1週間目に、外殖片の一部に直径約0.5mmのドーム状の組織が形成された。1鱗片当り20～30のドーム状組織が形成された。このドーム状組織をメスを使って切り取り、ホルモン無添加のLS培地に置床し、25℃、16時間照明で静置培養を行った。ドーム状組織は緑化、生長し、2週間～4週間で植物体となった。分離したドーム状組織のほぼ100%がこのように生長した。この植物体

を新しい培地に移植し、さらに培養を継続すると、植物体は発根した。発根した植物体は土を入れたポリポットに移植し栽培した。

6. ウイルス検定

ドーム状組織を分離培養して得られたニンニクの葉片を検体としてウイルス検定を行った。ウイルス検定はウイルスの遺伝子配列の一部をプライマーとするRT-PCRによって行った。

葉片からRNAを抽出し、cDNA合成キットを用いてcDNA合成を行った。このcDNAをテンプレートとし、ウイルス検出用プライマーを用いてPCRを行った。このプライマーはニンニクに感染するウイルス遺伝子の塩基配列をもとにし、ウイルスに特異的な増幅産物が得られるよう設計したものである。garlic viruses (GarVs)、leek yellow stripe virus (LYSV)、onion yellow dwarf virus (OYDV) 及びgarlic latent virus (GLV)の4種類のウイルスについてそれぞれ特異的なプライマーを設計し、PCR反応を行った。PCR反応後、特異的な増幅産物の有無をアガロースゲル電気泳動で調べ、ウイルスの有無を判定した。

その結果、福地ホワイト種、北海道在来種のいずれにおいても、ドーム状組織を分離培養して得られた植物からは、ウイルスの存在を示す増幅産物は確認されなかった。材料のニンニク、およびドーム状組織を分離することなく培養を継続して得られた植物では、ウイルスの存在を示す増幅産物が確認された。すなわち普通葉基部の培養で形成されるドーム状組織を分離培養することによって、ウイルスフリーニンニクが得られることが確認された。

なお、ウイルスの検出に使用したプライマーは次の通りであった。

。

表 1
プライマーの配列と増幅される領域

ウイルス	プライマーの配列	増幅している領域
GarV-A, B, C, D (common)	N-RT1 : 5'-CCTGCTAAGCTATATGCTGA-3' N-RT2 : 5'-GTAAGTTTAGCGATATCAAC-3'	(配列番号 : 1) (配列番号 : 2) 3'-terminal ORF 3' non-coding
LYSV	7-RT3 : 5'-AAGAGTCAACACTTGGTTTG-3' 7-RT4 : 5'-GGTCTCAATCCTAGCTAGTC-3'	(配列番号 : 3) (配列番号 : 4) 3' non-coding 3' non-coding
OYDV garlic-type	OGP1 : 5'-GAAGCGCACATGCCAAATGAAG-3' OGM1 : 5'-CGCCACAACTAGTCGTACAC-3'	(配列番号 : 5) (配列番号 : 6) CP gene 3' non-coding
GLV/SLV	SLP1 : 5'-TATGCTCGAGCTCGTAGAGC-3' HRT2 : 5'-GGGTTTCACATTGTTACACC-3'	(配列番号 : 7) (配列番号 : 8) 3'-terminal ORF 3'-terminal ORF
GCLV	GCPI : 5'-AATGGGTGTTCTAGCAGTGC-3' GCM1 : 5'-TTAAACCTTAGTCAAGCTATTC-3'	(配列番号 : 9) (配列番号 : 10) 3'-terminal ORF 3' non-coding
Alliinase	C-AL5' : 5'-TCTGGTAGTCGATTTGGTGGCGG-3' NC3'-1 : 5'-ACCATAGCATTAGGATGTATG-3'	(配列番号 : 11) (配列番号 : 12)

また、ウイルス検定の結果を次に示す。

表 2

各植物のウイルス検定の結果

植 物	ウイルス			
	GarVs	LYSV	OYDV	GLV
福地ホワイト種（ウイルス 1 種）				
（1）親植物	—	+	—	—
（2）ドーム状組織を分離することなく再生した植物	—	+	—	—
（3）ドーム状組織を分離して再生した植物 （合計 11 本）	—	—	—	—
福地ホワイト種（ウイルス 2 種）				
（1）親植物	—	+	+	—
（2）ドーム状組織を分離することなく再生した植物	—	+	+	—
（3）ドーム状組織を分離して再生した植物 （合計 5 本）	—	—	—	—
北海道在来種				
（1）親植物	+	+	+	+
（2）ドーム状組織を分離することなく再生した植物	+	+	+	+
（3）ドーム状組織を分離して再生した植物 （合計 6 本）	—	—	—	—

産業上の利用可能性

本発明によるウイルスフリー作出培養法によれば、茎頂培養に比較して大量のウイルスフリー植物が得られる。従来の茎頂培養法によれば、茎頂が 1 鱗片に 1 個もしくは数個しかなく、さらに 1 個の

茎頂から 1 個体の植物体しか得られないことが一般的であることから、大量にウイルスフリー植物を得ることが困難であった。それに対し、普通葉基部の培養法では 1 鱗片の培養で複数個、ニンニクの場合は 1 鱗片から 20～30 のドーム状組織が得られる。従ってウイルスフリー植物の大量増殖が容易になる。

請 求 の 範 囲

1. 鱗茎または球根によって繁殖する植物の普通葉基部の培養によって形成されるドーム状組織を分離、培養することを特徴とするウイルスフリー植物の作出方法。

2. 茎頂及び普通葉を除いた普通葉基部から成る外植片を植物ホルモン非存在下で培養し、ドーム状組織を形成させる、請求項1に記載の方法。

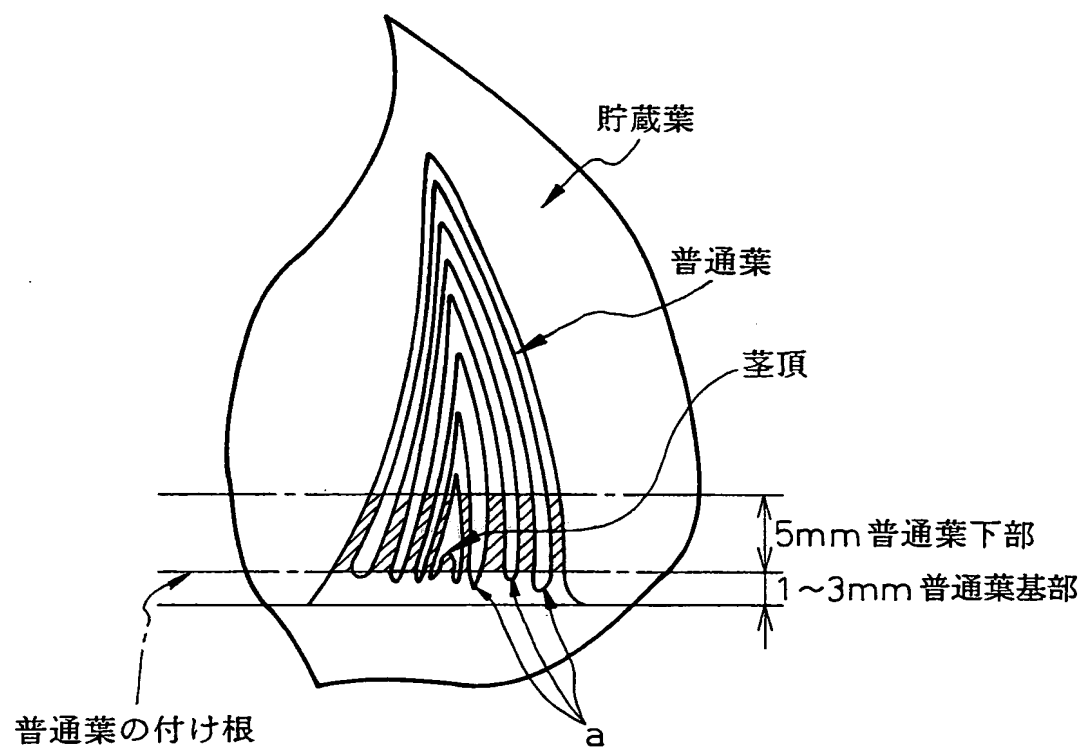
3. 前記普通葉基部が、普通葉の付け根から1～3 mm下部までの部分である、請求項1又は2に記載の方法。

4. 鱗茎または球根によって増殖する植物がアリウム属植物である請求項1～3のいずれか1項に記載の方法。

5. アリウム属植物がニンニクである請求項4に記載の方法。

THIS PAGE BLANK (USPTO)

Fig.1



THIS PAGE BLANK (USPTO)

SEQUENCE LISTING

< 1 1 0 > Wakunaga Seiyaku Kabushiki Kaisha
< 1 2 0 > Process for production of virus-free plants
< 1 3 0 > 9 9 3 7 3 0
< 1 6 0 > 1 2
< 2 1 0 > 1
< 2 1 1 > 2 0
< 2 1 2 > DNA
< 2 1 3 > Artificial Sequence
< 2 2 0 >
< 2 2 1 >
< 2 2 2 >
< 2 2 3 > Primer
< 4 0 0 > 1
cctgctaagc tatatgctga 20
< 2 1 0 > 2
< 2 1 1 > 2 0
< 2 1 2 > DNA
< 2 1 3 > Artificial Sequence
< 2 2 0 >
< 2 2 1 >
< 2 2 2 >
< 2 2 3 > Primer
< 4 0 0 > 2
gtaagtttag cgatatcaac 20
< 2 1 0 > 3

THIS PAGE BLANK (USPTO)

< 2 1 1 > 2 0

< 2 1 2 > DNA

< 2 1 3 > Artificial Sequence

< 2 2 0 >

< 2 2 1 >

< 2 2 2 >

< 2 2 3 > Primer

< 4 0 0 > 3

aagagtcaac acttggtttg

20

< 2 1 0 > 4

< 2 1 1 > 2 0

< 2 1 2 > DNA

< 2 1 3 > Artificial Sequence

< 2 2 0 >

< 2 2 1 >

< 2 2 2 >

< 2 2 3 > Primer

< 4 0 0 > 4

ggtctcaatc ctagctagtc

20

< 2 1 0 > 5

< 2 1 1 > 2 1

< 2 1 2 > DNA

< 2 1 3 > Artificial Sequence

< 2 2 0 >

< 2 2 1 >

< 2 2 2 >

< 2 2 3 > Primer

THIS PAGE BLANK (USPTO)

< 4 0 0 > 5

gaagcgcaca tgcaaataaa g

21

< 2 1 0 > 6

< 2 1 1 > 2 0

< 2 1 2 > DNA

< 2 1 3 > Artificial Sequence

< 2 2 0 >

< 2 2 1 >

< 2 2 2 >

< 2 2 3 > Primer

< 4 0 0 > 6

cgccacaact agtggtacac

20

< 2 1 0 > 7

< 2 1 1 > 2 0

< 2 1 2 > DNA

< 2 1 3 > Artificial Sequence

< 2 2 0 >

< 2 2 1 >

< 2 2 2 >

< 2 2 3 > Primer

< 4 0 0 > 7

tatgctcgag ctcgtagagc

20

< 2 1 0 > 8

< 2 1 1 > 2 0

< 2 1 2 > DNA

< 2 1 3 > Artificial Sequence

< 2 2 0 >

THIS PAGE BLANK (USPTO)

< 2 2 1 >

< 2 2 2 >

< 2 2 3 > Primer

< 4 0 0 > 8

gggtttcaca ttgttacacc

20

< 2 1 0 > 9

< 2 1 1 > 2 0

< 2 1 2 > DNA

< 2 1 3 > Artificial Sequence

< 2 2 0 >

< 2 2 1 >

< 2 2 2 >

< 2 2 3 > Primer

< 4 0 0 > 9

aatgggtgtt ctaggagtgc

20

< 2 1 0 > 1 0

< 2 1 1 > 2 2

< 2 1 2 > DNA

< 2 1 3 > Artificial Sequence

< 2 2 0 >

< 2 2 1 >

< 2 2 2 >

< 2 2 3 > Primer

< 4 0 0 > 1 0

ttaaacctta gtcaagctat tc

22

< 2 1 0 > 1 1

< 2 1 1 > 2 4

THIS PAGE BLANK (USPTO)

< 2 1 2 > DNA

< 2 1 3 > Artificial Sequence

< 2 2 0 >

< 2 2 1 >

< 2 2 2 >

< 2 2 3 > Primer

< 4 0 0 > 1 1

tctggtagtc gatttgggtg ggcg

24

< 2 1 0 > 1 2

< 2 1 1 > 2 1

< 2 1 2 > DNA

< 2 1 3 > Artificial Sequence

< 2 2 0 >

< 2 2 1 >

< 2 2 2 >

< 2 2 3 > Primer

< 4 0 0 > 1 2

accatagcat taggatgtat g

21

THIS PAGE BLANK

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/04022

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER
Int. Cl.⁷ A01H4/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)
Int. Cl.⁷ A01H4/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)
JICST FILE (JOIS)
BIOSIS (DIALOG)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	JP, 6-197650, A (Wakunaga Pharmaceutical Co., Ltd.), 19 July, 1994 (19.07.94), Full text; all drawings; especially, Par. Nos. [0004]-[0005], [0038] (Family: none)	1-5
A	JP, 3-160935, A (Ajinomoto Co., Inc.), 10 July, 1991 (10.07.91), Full text; all drawings (Family: none)	1-5

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☐ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier document but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search
11 September, 2000 (11.09.00)

Date of mailing of the international search report
19 September, 2000 (19.09.00)

Name and mailing address of the ISA/
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

THIS PAGE BLANK (USPTO)

A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl ⁷ A01H4/00		
B. 調査を行った分野		
調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))		
Int. Cl ⁷ A01H4/00		
最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの		
国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)		
JICSTファイル (JOIS) BIOSIS (DIALOG)		
C. 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X	JP, 6-197650, A (湧永製菓株式会社), 19. 7月. 1994 (19. 07. 94), 全文, 全図, 特に【0004】～ 【0005】及び【0038】 (ファミリーなし)	1-5
A	JP, 3-160935, A (味の素株式会社), 10. 7月. 1 991 (10. 07. 91), 全文, 全図 (ファミリーなし)	1-5
<input type="checkbox"/> C欄の続きにも文献が列挙されている。 <input type="checkbox"/> パテントファミリーに関する別紙を参照。		
* 引用文献のカテゴリー 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの 「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの 「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す) 「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献 「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願日の後に公表された文献 「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの 「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの 「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの 「&」 同一パテントファミリー文献		
国際調査を完了した日	11. 09. 00	国際調査報告の発送日
国際調査機関の名称及びあて先 日本国特許庁 (ISA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号		特許庁審査官 (権限のある職員) 坂田 誠 2B 9318 電話番号 03-3581-1101 内線 3235

THIS PAGE BLANK (USPTO)

特許協力条約に基づく国際出願願書

1/4

10/018293

H740-PCT

原本（出願用） - 印刷日時 2000年06月20日（20.06.2000）火曜日 17時00分06秒

0	受理官庁記入欄 国際出願番号.	
0-1		
0-2	国際出願日	
0-3	(受付印)	
0-4	様式-PCT/RO/101 この特許協力条約に基づく国際出願願書は、 右記によって作成された。	PCT-EASY Version 2.90 (updated 10.05.2000)
0-5	申立て 出願人は、この国際出願が特許協力条約に従って処理されることを請求する。	
0-6	出願人によって指定された受理官庁	日本国特許庁 (RO/JP)
0-7	出願人又は代理人の書類記号	H740-PCT
I	発明の名称	ウイルスフリー植物の作出方法
II	出願人	出願人である (applicant only)
II-1	この欄に記載した者は	米国を除くすべての指定国 (all designated States except US)
II-2	右の指定国についての出願人である。	
II-4ja	名称	湧永製薬株式会社
II-4en	Name	Wakunaga Pharmaceutical Co., Ltd.
II-5ja	あて名:	532-0003 日本国 大阪府 大阪市淀川区宮原 4丁目5番36号
II-5en	Address:	5-36, Miyahara 4-chome, Yodogawa-ku, Osaka-shi, Osaka 532-0003 Japan
II-6	国籍 (国名)	日本国 JP
II-7	住所 (国名)	日本国 JP
III-1	その他の出願人又は発明者	出願人及び発明者である (applicant and inventor)
III-1-1	この欄に記載した者は	米国のみ (US only)
III-1-2	右の指定国についての出願人である。	
III-1-4ja	氏名 (姓名)	綾部 昌則
III-1-4en	Name (LAST, First)	AYABE, Masanori
III-1-5ja	あて名:	739-1105 日本国 広島県 高田郡甲田町下甲立 1624
III-1-5en	Address:	湧永製薬株式会社内 C/O Wakunaga Pharmaceutical Co., Ltd. 1624, Shimokotachi, Koda-cho, Takata-gun, Hiroshima 739-1105 Japan
III-1-6	国籍 (国名)	日本国 JP
III-1-7	住所 (国名)	日本国 JP



THIS PAGE BLANK (USPTO)

特許協力条約に基づく国際出願願書

原本(出願用) - 印刷日時 2000年06月20日 (20. 06. 2000) 火曜日 17時00分06秒

H740-PCT

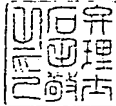

III-2 III-2-1	その他の出願人又は発明者 この欄に記載した者は	出願人及び発明者である (applicant and inventor)
III-2-2	右の指定国についての出願人である。	米国のみ (US only)
III-2-4ja	氏名(姓名)	角 慎一郎
III-2-4en	Name (LAST, First)	SUMI, Shinichiro
III-2-5ja	あて名:	739-1105 日本国 広島県 高田郡甲田町下甲立 1 6 2 4
III-2-5en	Address:	湧永製薬株式会社内 C/O Wakunaga Pharmaceutical Co., Ltd. 1624, Shimokotachi, Koda-cho, Takata-gun, Hiroshima 739-1105 Japan
III-2-6	国籍(国名)	日本国 JP
III-2-7	住所(国名)	日本国 JP
IV-1	代理人又は共通の代表者、通知のあて名 下記の者は国際機関において右記のごとく出願人のために行動する。	代理人 (agent)
IV-1-1ja	氏名(姓名)	石田 敬
IV-1-1en	Name (LAST, First)	ISHIDA, Takashi
IV-1-2ja	あて名:	105-8423 日本国 東京都 港区虎ノ門 三丁目5番1号 虎ノ門37森ビル 青和特許法律事務所
IV-1-2en	Address:	A. AOKI, ISHIDA & ASSOCIATES Toranomom 37 Mori Bldg., 5-1, Toranomom 3-chome, Minato-ku, Tokyo 105-8423 Japan
IV-1-3	電話番号	03-5470-1900
IV-1-4	ファクシミリ番号	03-5470-1911
IV-2	その他の代理人	筆頭代理人と同じあて名を有する代理人 (additional agent(s) with same address as first named agent)
IV-2-1ja	氏名	鶴田 準一; 福本 積; 西山 雅也; 樋口 外治
IV-2-1en	Name(s)	TSURUTA, Junichi; FUKUMOTO, Tsumoru; NISHIYAMA, Masaya; HIGUCHI, Sotoji
V	国の指定	EP: AT BE CH&LI CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LU MC NL PT SE 及びヨーロッパ特許条約と特許協力条約の締約国 である他の国
V-1	広域特許 (他の種類の保護又は取扱いを求める場合には括弧内に記載する。)	EP: AT BE CH&LI CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LU MC NL PT SE 及びヨーロッパ特許条約と特許協力条約の締約国 である他の国
V-2	国内特許 (他の種類の保護又は取扱いを求める場合には括弧内に記載する。)	CA CN JP US

THIS PAGE BLANK (USPTO)

特許協力条約に基づく国際出願願書

H740-PCT

原本 (出願用) - 印刷日時 2000年06月20日 (20. 06. 2000) 火曜日 17時00分06秒


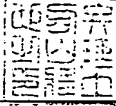
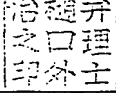
V-5	指定の確認の宣言 出願人は、上記の指定に加えて、規則4.9(b)の規定に基づき、特許協力条約のもとで認められる他の全ての国の指定を行う。ただし、V-6欄に示した国の指定を除く。出願人は、これらの追加される指定が確認を条件としていること、並びに優先日から15月が経過する前にその確認がなされない指定は、この期間の経過時に、出願人によって取り下げられたものとみなされることを宣言する。		
V-6	指定の確認から除かれる国	なし (NONE)	
VI-1	先の国内出願に基づく優先権主張		
VI-1-1	先の出願日	1999年06月22日 (22. 06. 1999)	
VI-1-2	先の出願番号	特願平11-175768号	
VI-1-3	国名	日本国 JP	
VII-1	特定された国際調査機関 (ISA)	日本国特許庁 (ISA/JP)	
VIII	照合欄	用紙の枚数	添付された電子データ
VIII-1	願書	4	-
VIII-2	明細書 (配列表を除く)	10	-
VIII-3	請求の範囲	1	-
VIII-4	要約	1	wckh740. txt
VIII-5	図面	1	-
VIII-6	明細書の配列表	5	-
VIII-7	合計	22	
VIII-8	添付書類	添付	添付された電子データ
VIII-8	手数料計算用紙	✓	-
VIII-9	別個の記名押印された委任状	✓	-
VIII-15	計算機読取可能な媒体によるマルチビット及び/又はアミノ酸配列リスト		別個のフレキシブルディスク
VIII-16	PCT-EASYディスク	-	フレキシブルディスク
VIII-17	その他	納付する手数料に相当する特許印紙を貼付した書面	-
VIII-17	その他	陳述書	-
VIII-17	その他	フレキシブルディスクの記録形式等の情報を記載した書面	-
VIII-18	要約書とともに提示する図の番号		
VIII-19	国際出願の使用言語名:	日本語 (Japanese)	
IX-1	提出者の記名押印		
IX-1-1	氏名 (姓名)	石田 敬	
IX-2	提出者の記名押印		
IX-2-1	氏名 (姓名)	鶴田 準一	

THIS PAGE BLANK (USPTO)

特許協力条約に基づく国際出願願書

H740-PCT

原本（出願用） - 印刷日時 2000年06月20日（20.06.2000）火曜日 17時00分06秒

IX-3	提出者の記名押印		
IX-3-1	氏名(姓名)	福本 積	
IX-4	提出者の記名押印		
IX-4-1	氏名(姓名)	西山 雅也	
IX-5	提出者の記名押印		
IX-5-1	氏名(姓名)	樋口 外治	

受理官庁記入欄

10-1	国際出願として提出された書類の実際の受理の日	
10-2	図面：	
10-2-1	受理された	
10-2-2	不足図面がある	
10-3	国際出願として提出された書類を補完する書類又は図面であつてその後期間内に提出されたものの実際の受理の日（訂正日）	
10-4	特許協力条約第11条(2)に基づく必要な補完の期間内の受理の日	
10-5	出願人により特定された国際調査機関	ISA/JP
10-6	調査手数料未払いにつき、国際調査機関に調査用写しを送付していない	

国際事務局記入欄

11-1	記録原本の受理の日	
------	-----------	--

THIS PAGE BLANK (USPTO)